

- For more records, click the Records link at page end.
- To change the format of selected records, select format and click **Display Selected**.
- To print/save clean copies of selected records from browser click **Print/Save Selected**.
- To have records sent as hardcopy or via email, click **Send Results**.

<input checked="" type="checkbox"/> Select All	<input type="checkbox"/> Clear Selections	Print/Save Selected	Send Results	Display Selected	Format Full
---	--	----------------------------	---------------------	-------------------------	-----------------------

1. ☒ 15/19/1

000704108

WPI Acc No: 1970-41264R/197023

Collagen membranes contng a therapeutic compd

Patent Assignee: CHVAPIL M (CHV -I); CHVAPIL M (CHVA-I)

Number of Countries: 006 Number of Patents: 007

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
DE 1811290	A					197023 B
CH 503773	A					197120
FR 2070064	A					197149
CA 908905	A					197238
GB 1298223	A					197248
US 3823212	A	19740709				197429
DE 1811290	B	19790613				197925

Priority Applications (No Type Date): DE 1811290 A 19681127

Abstract (Basic): DE 1811290/A

Prepared from collagen tissues (animal cartilage, ligament and skin connectives) by (1) mincing, (2) digesting in alkali and (3) slow polymerization in presence of (A) 0.2-2% glutaric dialdehyde or melamine formaldehyde cross-linking agent, (B) 0.2-1% glycerol or sorbitol softener, (C) therapeutic active agents e.g. 30-60% per dry wt. collagen of antibiotic, analgesic or (anti-) coagulant, at -30 degrees C for 30 days; (D) removal of water mechanically yields a felt-like to spongy material the degree of cross-linking being easily controlled by the slow rate of polymerisation.

Title Terms: COLLAGEN; MEMBRANE; THERAPEUTIC

Derwent Class: D22

International Patent Class (Additional): B29D-027/03; C08H-001/06; C08L-089/06

File Segment: CPI

Manual Codes (CPI/A-N): A03-C01; A11-A02; A11-B; A11-B06; A12-S05G; A12-V03; B04-B04A; B07-D13; B10-D01; B10-E04; D09-C

Polymer Fragment Codes (PF):

001 01- 256 315 341 402 408 409 448 474 481 483 645 664 665

Chemical Fragment Codes (M1):

01 V020 V021 V141 V201 V751 V752 V753 V754 F113 F123 F199 F521 F522
F580 G420 G100 M531 G563 L810 L819 H161 H181 H122 H123 H162 H163
H182 H183 J171 J172 J173 J451 J471 J452 J472 J351 J352 H401 H441
H461 H481 H422 H423 H424 H462 H463 H464 H482 H483 H484 H498 J563
H521 H523 M620 M240 M232 M233 M331 M333 M431 P220 M510 M520 M521
P411 M523 M530 M540 M541 P831 P832 M781 M782 R000 M423 M413 M414
M416 M901

Chemical Fragment Codes (M2):

02 M126 M129 M141 M139 M149 F113 F123 F199 F521 F522 F580 G420 G100
M531 G563 L810 L819 H161 H181 H122 H123 H162 H163 H182 H183 J171
J172 J173 J451 J471 J452 J472 J351 J352 H401 H441 H461 H481 H422
H423 H424 H462 H463 H464 H482 H483 H484 H498 J563 H521 H523 M620
M240 M232 M233 M331 M333 M431 P220 M510 M520 M521 P411 M523 M530

M540 M541 P831 P832 M781 M782 R000 M413 M414 M416 M901

Derwent WPI (Dialog® File 351); (c) 2001 Derwent Info Ltd. All rights reserved.

✓ Select All	Print/Save Selected	Send Results	Display Selected	Format
✗ Clear Selections				Full

© 2001 The Dialog Corporation plc



7A32508

Offenlegungsschrift 1811 290

Aktenzeichen: P 18 11 290.8
Anmeldetag: 27. November 1968
Offenlegungstag: 4. Juni 1970

- 16
- 17
- 18
- 19
- 20
- 21
- 22
- 23
- 24

Ausstellungspriorität: —

- 25
- 26
- 27
- 28
- 29
- 30

Unionspriorität
Datum: —
Land: —
Aktenzeichen: —

- 31

Bezeichnung: Verfahren zur Herstellung von Kollagenfasergeflechten in Form von
filzartigen Membranen oder schwammartigen Schichten

- 32
- 33
- 34

Zusatz zu: —
Ausscheidung aus: —
Anmelder: Chvapil, Dr. med. Dr. Se. Milos, 8000 München
Vertreter: —

- 35

Als Erfinder benannt: Erfinder ist der Anmelder

Benachrichtigung gemäß Art. 7 § 1 Abs. 2 Nr. 1 d. Ges. v. 4. 9. 1967 (BGBl. I S. 960): —
Prüfungsantrag gemäß § 28 b PatG ist gestellt

Bem.: Patentrechte 30 g

DE 1811290

DR. ALFRED RIEDEL
Patentanwalt
8 MÜNCHEN 22
Thierschstr. 8/IV
Telefon: (0811) 26913

C 101

Miloš Chvapil, München
=====

Verfahren zur Herstellung von Kollagenfasergeflechten
=====

in Form von filzartigen Membranen oder schwammartigen
=====

Schichten
=====

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von Kollagenfasergeflechten in Form von filzartigen Membranen oder schwammartigen Schichten, bei dem alkalisch und/oder sauer aufgeschlossene Haut und/oder Sehnen oder andere kollagenreiche Bindegewebe von Tieren mechanisch zerkleinert, die erhaltene zerkleinerte Kollagenmasse gegebenenfalls unter gleichzeitigem Zusatz von Vernetzungsmitteln, Weichmachern und/oder therapeutisch oder diagnostisch wirksamen Verbindungen mit Wasser zu einem homogenen Kollagenbrei aufgeschlämmt und der erhaltene Kollagenbrei in Form einer Schicht eingefroren und von der Hauptmenge Wasser befreit wird.

Es ist bekannt, in der Medizin, insbesondere der Chirurgie, zum Stillen von Blutungen, als Tampon und/oder als Verbandstoff als Kollagenschwämme bezeichnete Kollagenfasergeflechte zu verwenden. Die Herstellung derartiger Kollagenschwämme wird z.B. in der deutschen Patentschrift

009823/1762

(Patentanmeldung S 97 055) sowie in der französischen Patentschrift 1 441 817 beschrieben. Nach diesen bekannten Verfahren zur Herstellung von Kollagenfasergeflechten werden in der Regel alkalisch und/oder sauer aufgeschlossene Rindshaut und/oder Rindersehnen mechanisch zerkleinert, die erhaltene Kollagenmasse wird mit Wasser zu einem homogenen Kollagenbrei aufgeschlämmt, nach Einstellen des pH-Wertes auf etwa 7,0 wird der erhaltene Kollagenbrei in Form einer Schicht eingefroren, worauf aus der gefrorenen Kollagenschicht durch Lyophilisation oder durch Extraktion mit organischen Lösungsmitteln die Hauptmenge an Wasser entfernt wird.

Dieses bekannte Verfahren hat den Vorteil, dass dem Kollagenbrei in vorteilhafter Weise die Eigenschaften des daraus hergestellten Kollagenfasergeflechtes beeinflussende Verbindungen, z.B. Härtungsmittel und/oder Weichmacher, sowie therapeutisch und/oder diagnostisch wirksame Verbindungen, z.B. die Blutgerinnung hemmende oder fördernde Verbindungen, Analgetika, Antibiotika oder Isotope enthaltende Verbindungen einverleibt, und dadurch vielseitig verwendbare Kollagenfasergeflechte in Form von schwammartigen Schichten hergestellt werden können.

Nachteilig ist jedoch, dass dieses bekannte Verfahren relativ kostenaufwendig ist, wobei in der Regel mehr als 80 % der anfallenden Verfahrenskosten zu Lasten der Verfahrensstufe gehen, in der die Hauptmenge des vorhandenen Wassers aus der gefrorenen Kollagenschicht entfernt wird, d.h. dass die Energiekosten bei der Lyophilisation bzw. die Lösungsmittelkosten bei der Extraktion das Verfahren ungebührlich verteuern und seine Wirtschaftlichkeit sehr nachteilig beeinflussen.

Nachteilig ist ferner, dass das bekannte Verfahren zwar die Herstellung von Kollagenfasergeflechtem in Form von schwammartigen Schichten, nicht jedoch in Form von filzartigen Membranen mit geringerer Dicke und Quellfähigkeit ermöglicht. Nach derartigen Membranen besteht jedoch ein starkes Bedürfnis. Derartige Membranen oder Folien können z.B. in der Medizin vielfache Verwendung finden, z.B. zur Behandlung von Hautverbrennungen und -verätzungen, wo bisweilen grosse Wundflächen abgedeckt werden müssen, um die verletzten Stellen gegenüber zusätzlichen äusseren Verletzungen zu schützen, um zu verhindern, dass eine Infektion der Wunde eintritt oder dass das Verbandsmaterial an der Wunde festklebt, um ferner die Wundheilung durch Zuführung therapeutisch wirksamer Verbindungen zu fördern, sowie um durch langsame Absorption des gebildeten Exsudats die Mazeration der Wunde zu verhindern.

Ferner können derartige Membranen als Ersatz für bestimmte Körpermembranen, z.B. der Dura mater, verwendet werden. Bisher standen hierfür nur die aus Neugeborenen gewonnenen, das Allantois, das Amnion und das Chorion aufbauenden Membranen sowie die aus Leichen gewonnene Dura mater zur Verfügung, oder es mussten körperfremde Folien, z.B. Acetylcellulose-Folien oder Metallfolien, beispielsweise Tantalfolien, die nicht absorbierbar sind und in einer zweiten Operation wieder entfernt werden müssen, verwendet werden. Die für die angegebenen Zwecke bisher verwendeten Membranen besitzen ferner den Nachteil, dass sie praktisch nicht mit den die Wundheilung fördernden, therapeutisch aktiven Verbindungen beladen werden können und dass sie zur Absorption des gebildeten Wundexsudates in der Regel nicht befähigt sind. Nachteilig ist ferner, dass deren Herstellung zeit- und kostenaufwendig ist und dass es schwierig ist, derartige Membranen frei von antigener Wirkung unter Erzielung reproduzierbarer Eigenschaften herzustellen.

Aufgabe der Erfindung ist es, ein in einfacher und billiger Weise durchzuführendes Verfahren anzugeben, nach dem Kollagenfasergeflechte in Form von filzartigen Membranen oder schwammartigen Schichten mit hoher mechanischer Festigkeit bei gleichzeitiger ausgezeichnete Flexibilität, mit hoher Absorptionsfähigkeit für Flüssigkeiten, geringer antigenen Wirkung, hoher Bindefähigkeit für Feststoffe sowie die Fibrillogenese stimulierender Wirkung in besonders vorteilhafter Weise hergestellt werden können.

Der Erfindung liegt die Erkenntnis zugrunde, dass sich ein, gegebenenfalls Vernetzungsmittel enthaltender, geschäumter Kollagenbrei in völlig überraschender Weise bei Temperaturen unterhalb des Gefrierpunktes, nicht jedoch bei positiven Temperaturen, vernetzt. Wird daher der in Form einer Schicht eingefrorene geschäumte Kollagenbrei bei tiefen Temperaturen inkubiert, so kann durch Aufeinanderabstimmen von Inkubationszeit und Inkubationstemperatur die Vernetzung in der Weise gesteuert werden, dass nur mässig quellfähige Kollagenfasergeflechte mit noch nicht voll ausgebildeter Vernetzung in Form von filzartigen Membranen, oder stark quellfähige Kollagenfasergeflechte mit hochgradig ausgebildeter, dreidimensionaler Vernetzung in Form von schwammartigen Schichten gebildet werden, ohne dass zur Vermeidung des Zusammenbrechens der netzartigen Struktur die Hauptmenge des in dem Kollagenfasergeflecht eingeschlossenen Wassers in gefrorenem Zustand entfernt werden muss, wie dies z.B. bei dem bekannten Verfahren zur Herstellung eines Kollagenschwammes erforderlich ist. Die gewerbliche Verwertbarkeit der in einfacher und billiger Weise herstellbaren erfindungsgemässen Kollagenfasergeflechte erstreckt sich nicht nur auf medizinische, sondern auch auf zahlreiche technische Gebiete, wo eine saugfähige und abriebfeste, ggf. mit Kunststoff- oder Textilmaterialien verbindbare Membran oder Schicht mit guter Festigkeit und Flexibilität z.B. als Le-

derersatz, beispielsweise in der Futterlederherstellung, oder auf anderen technischen Gebieten verwendbar ist, z.B. zur Herstellung von Menstruationstampons.

Gegenstand der Erfindung ist daher ein Verfahren zur Herstellung von Kollagenfasergeflechten in Form von filzartigen Membranen oder schwammartigen Schichten, bei dem alkalisch und/oder sauer aufgeschlossene Haut und/oder Sehnen oder andere kollagenreiche Bindegewebe von Tieren mechanisch zerkleinert, die erhaltene zerkleinerte Kollagenmasse gegebenenfalls unter gleichzeitigem Zusatz von Vernetzungsmitteln, Weichmachern und/oder therapeutisch oder diagnostisch wirksamen Verbindungen mit Wasser zu einem homogenen Kollagenbrei aufschlämmt und der erhaltene Kollagenbrei in Form einer Schicht eingefroren und von der Hauptmenge Wasser befreit wird, das dadurch gekennzeichnet ist, dass man die zerkleinerte Kollagenmasse unter Schaumbildung in Gegenwart von Luft und/oder einem inerten Gas zu einem homogenen Kollagenbrei mit einem Kollagengehalt von etwa 0,3 bis 3 %, vorzugsweise von 0,5 bis 2 %, bezogen auf das Trockengewicht, aufschlämmt, den pH-Wert des Kollagenbreies auf 3 bis 5,5, vorzugsweise auf 4 bis 5 einstellt, den geschäumten Kollagenbrei in Form einer Schicht bei Temperaturen von -2 bis -40°C , vorzugsweise von -5 bis -30°C , einfriert und 1 bis 30 Tage lang, vorzugsweise 2 bis 8 Tage lang, unter normalem Druck bei den angegebenen Temperaturen belässt, danach die gefrorene Kollagenschicht bei Temperaturen von etwa 10 bis 30°C , vorzugsweise bei Zimmertemperatur, auftaut, aus dem erhaltenen aufgetauten Kollagenfasergeflecht die Hauptmenge an Wasser durch Auspressen mechanisch entfernt und gegebenenfalls das ausgepresste Kollagenfasergeflecht bei Zimmertemperatur trocknet.

Gemäss einer vorteilhaften Ausführungsform des Verfahrens der Erfindung wird zunächst durch alkalischen und/oder

sauren Aufschlusses aus Rinderhaut und Rindersehnen gewonnenes Kollagen mechanisch zerkleinert und die erhaltene Kollagenmasse zur Entfernung von Verunreinigungen, die in der Regel für die antigene Wirkung ungereinigten Kollagens verantwortlich sind, mehrere Male mit 10%iger Natriumchloridlösung gewaschen. Die gewaschene Kollagenmasse wird dann mit Wasser von einem pH-Wert über 4, vorzugsweise von 4 bis 5, zu einem homogenen, als "Ausgangskollagenbrei" bezeichneten Kollagenbrei mit einem Kollagengehalt von etwa 8 bis 13 %, bezogen auf Trockengewicht, aufgeschlämmt.

Der erhaltene Ausgangskollagenbrei wird dann mit soviel Wasser, dass der Kollagengehalt des erhaltenen Gemisches, bezogen auf Trockensubstanz, 0,3 bis 3 %, vorzugsweise 0,5 bis 2 %, beträgt sowie gegebenenfalls mit Gerbmitteln, Weichmachern und/oder therapeutisch oder diagnostisch wirksamen Verbindungen versetzt, worauf das erhaltene Gemisch unter Schaumbildung, vorzugsweise in einer hochtourig bei etwa 500 bis 800 Upm laufenden Mischvorrichtung in Gegenwart von Luft homogenisiert, und schliesslich der erhaltene geschäumte Kollagenbrei in Form von Schichten von etwa 0,5 bis 5 cm, vorzugsweise von 0,5 bis 3 cm Stärke in Behälter aus z.B. Kunststoffen, Glas oder Metall vergossen sowie in der angegebenen Weise eingefroren und bei diesen Temperaturen inkubiert wird, worauf die gefrorenen Kollagenschichten vorzugsweise bei Zimmertemperatur aufgetaut und zur Entfernung der Hauptmenge an Wasser ausgepresst werden. Die ausgepressten Kollagenfasergeflechte werden gegebenenfalls bei Zimmertemperatur, gegebenenfalls durch Aufblasen eines Luftstromes auf eine oder beide Seiten des zu trocknenden Materials getrocknet, wobei es sich zur Verhinderung der Verformung als zweckmässig erwiesen hat, das zu trocknende Kollagenfasergeflecht beidseitig mit einem saugfähigen Gewebe, z.B. Filterpapier, zu bedecken und darüber ein festes, die Dimensionsstabilität des zu trocknenden Materials

erhaltendes Sieb anzuordnen. Das getrocknete, in der Regel noch etwa 10 % Wasser enthaltende Kollagenfasergeflecht kann dann in Stücke von geeigneter Grösse und Form geschnitten, in Kunststoffolien versiegelt und sterilisiert werden.

Zur Durchführung des Verfahrens der Erfindung ist es, wie bereits erwähnt, wichtig, dass der zum Einfrieren bestimmte Kollagenbrei unter Schaumbildung hergestellt wird, um einen von zahlreichen Gasblasen durchsetzten Brei zu erhalten. Es hat sich als vorteilhaft erwiesen, den Kollagenbrei in einer bei etwa 500 bis 800 Upm betriebenen Mischvorrichtung unter gleichzeitigem Einleiten von Luft oder inerten Gasen, beispielsweise von Stickstoff oder Kohlendioxyd, zu homogenisieren. Es hat sich gezeigt, dass ein Kollagenbrei mit einer Viskosität von etwa 200 bis 600 cp, vorzugsweise von 300 bis 500 cp, in besonders vorteilhafter Weise zu qualitativ hochwertigen Kollagenfasergeflechten verarbeitbar ist. Die Viskosität lässt sich in vorteilhafter Weise durch Einstellen des pH-Wertes oder des Kollagengehaltes steuern, wobei ein Kollagenbrei mit vergleichsweise niedrigem pH-Wert in der Regel eine vergleichsweise hohe Viskosität aufweist.

Das Verfahren der Erfindung kann, wie bereits erwähnt, in der Weise gesteuert werden, dass mehr oder weniger stark vernetzte Kollagenfasergeflechte mit mehr oder minder grosser Absorptionsfähigkeit für Flüssigkeiten erzielbar sind. Die Quellfähigkeit der erhaltenen Kollagenfasergeflechte hängt in erster Linie von der Inkubationszeit und der Inkubationstemperatur ab, wobei jedoch gegebenenfalls dem Kollagenbrei zugesetzte Gerbmittel die Vernetzungsgeschwindigkeit sowie den Vernetzungsgrad des erhaltenen Kollagenfasergeflechtes mitbestimmen.

Es hat sich als zweckmässig erwiesen, die drei angegebenen, die Struktur der erhaltenen Kollagenfasergeflechte beeinflussenden Faktoren, nämlich Inkubationszeit, Inkubationstemperatur und Gerbmittelgehalt, aufgrund von Vorversuchen aufeinander abzustimmen. In der Regel führt ein etwa 1 % Glutaraldehyd, bezogen auf Gesamtvolumen des Kollagengemisches, als Gerbmittel enthaltender Kollagenbrei bei etwa 8 Tage lange Inkubation bei -8°C zu einem sogenannten Kollagenschwamm, dessen dreidimensionale Netzstruktur soweit ausgebildet ist, dass er nach erfolgter Quellung beim Auswringen seine ursprüngliche Gestalt wieder einnimmt, wohingegen nach etwa 2 Tage langer Inkubation bei -20°C ein Kollagenfasergeflecht in Form einer filzartigen Membran erhalten wird, deren Vernetzungsgrad vergleichsweise gering ist, so dass die dreidimensionale Struktur beim Trocknen zusammenbricht und eine vergleichsweise wenig quellfähige Membran mit hoher mechanischer Festigkeit und Flexibilität resultiert.

Die einzuhaltenden Bedingungen hängen vom Typ des verwendeten Ausgangskollagenbreies ab. Als Anhaltspunkt kann die folgende Übersicht dienen, wobei jedoch Überschneidungen möglich sind:

ungefähre Verfahrens- bedingungen	zur Erzielung einer	
	filzartigen Membran	schwammartigen Schicht
Inkubationstemperatur, $^{\circ}\text{C}$	-20 bis -40	-2 bis -8
Inkubationszeit, Tage	0,5 bis 2	2 bis 14
Gerbmittelgehalt, % bezogen auf Glutaral- dehyd pro Gesamtvolumen des Kollagenbreies	0,1 bis 1	1 bis 3
Weichmachergehalt, % bezogen auf Sorbit pro Gesamtvolumen des Kollagenbreies	1 bis 3	0,1 bis 1

Zur Durchführung des Verfahrens der Erfindung können dem Kollagenbrei die üblichen, als Härtungsmittel für Eiweissstoffe bekannten Gerbmittel einverleibt werden. Als zweckmässig hat sich die Verwendung von Glutaraldehyd oder Melamin-Formaldehydharzen erwiesen, die physiologisch unbedenklich sind. Die Gerbmittel können in verschiedenen Konzentrationen angewandt werden. Als zweckmässig haben sich Konzentrationen von etwa 0,1 bis 3 %, vorzugsweise von 0,2 bis 2 %, bezogen auf das Gesamtvolumen des Kollagenbreies, erwiesen.

Zur Steuerung der elastischen Eigenschaften der nach dem Verfahren der Erfindung hergestellten Kollagenfasergeflechte hat sich ferner der Zusatz von Weichmachern zum Kollagenbrei, insbesondere, wenn dieser zur Herstellung von Kollagenfasergeflechten in Form von filzartigen Membranen bestimmt ist, als zweckmässig erwiesen. Dem Kollagenbrei können die üblichen bekannten Weichmacher, z.B. Glycerin oder Sorbit, einverleibt werden. Die Weichmacher können in verschiedenen Konzentrationen verwendet werden. Als zweckmässig haben sich Konzentrationen von etwa 0,1 bis 3 %, vorzugsweise von 0,3 bis 1 %, bezogen auf das Gesamtvolumen des Kollagenbreies, erwiesen. Liegen die Weichmacher in höheren, als den angegebenen Konzentrationen vor, so kann dies zu unerwünscht stark hydratisierten Kollagenfasergeflechten mit nur geringer Zugfestigkeit führen.

Werden dem Kollagenbrei therapeutisch wirksame Verbindungen einverleibt, so kann es sich um übliche bekannte, in der Wundpraxis und Chirurgie vielfach verwendete Verbindungen handeln, z.B. um die Blutgerinnung hemmende oder fördernde Verbindungen, ferner um Desinfektionsmittel, Analgetika, Antibiotika, beispielsweise Bacitracin, Neomycin oder Tetracyclin und dergl. Werden dem Kollagenbrei diagnostisch

wirksame Verbindungen zugesetzt, so kann es sich hierbei um radioaktive Isotope enthaltende Verbindungen handeln. Die therapeutisch und/oder diagnostisch wirksamen Verbindungen können in verschiedenen Konzentrationen verwendet werden. Es hat sich als zweckmässig erwiesen, die geeignete Konzentration durch Vorversuche zu bestimmen, um zu verhindern, dass bei Verwendung derartiger Verbindungen in zu hohen Konzentrationen die Kollagenproteine ausgefällt werden. Werden Antibiotika als Zusatz verwendet, so haben sich Konzentrationen von etwa 20 bis 100 %, vorzugsweise 30 bis 60 %, bezogen auf das Trockengewicht des im Kollagenbrei vorhandenen Kollagens, als vorteilhaft erwiesen.

Zur Durchführung des Verfahrens der Erfindung hat es sich als zweckmässig erwiesen, aus den bei Temperaturen von etwa 10 bis 30°C, vorzugsweise bei Zimmertemperatur, aufgetauten Kollagenschichten die Hauptmenge an Wasser durch Auspressen mechanisch zu entfernen. Das Auspressen kann nach üblichen bekannten Verfahren erfolgen, z.B. durch Pressen des auf einer festen Unterlage aufgetragenen Kollagenfasergeflechtes mit einem Gummiquetscher oder durch Pressen zwischen zwei rotierbar angeordneten Druckwalzen, deren Abstand voneinander verstellbar ist. Je nach der Dicke des Kollagenfasergeflechtes, hat sich ein Spaltabstand zwischen den beiden Druckwalzen von etwa 0,2 bis 0,5 cm, vorzugsweise von 0,3 cm, als geeignet erwiesen.

Werden die fertiggestellten Kollagenfasergeflechte, gegebenenfalls nach Zerschneiden in Stücke von geeigneter Form und Grösse sowie nach Versiegeln in einer Kunststoffolie, z.B. PVC-Folie, sterilisiert, so hat sich hierfür die Sterilisation mit Hilfe von Co^{60} -Isotopen, z.B. in einer Dosierung von 2 bis 4 Mrad, oder mit Hilfe von Äthylenoxydgas als vorteilhaft erwiesen, da hierdurch die Eigenschaften des Kollagenfasergeflechtes nicht nachteilig beeinflusst werden.

Gemäss einer vorteilhaften Ausführungsform des Verfahrens der Erfindung wird der, gegebenenfalls die angegebenen Zusätze enthaltende Kollagenbrei in Behälter gegossen, in die vorher ein Textilgewebe aus natürlich vorkommenden oder synthetisch hergestellten Fasern oder Fäden eingebracht worden war, und anschliessend wie angegeben weiter verarbeitet. Die auf diese Weise erhaltenen Kollagenfasergeflechte eignen sich in besonders vorteilhafter Weise zur Behandlung von Wunden, die mit Verbandstoffen leicht verkleben.

Die folgenden Beispiele sollen die Erfindung näher erläutern.

Beispiel 1

Es wurden 100 g des angegebenen Ausgangskollagenbreies mit einem Kollagengehalt von 8 %, bezogen auf Trockengewicht, mit 500 ml kaltem Wasser versetzt, worauf das erhaltene Gemisch unter langsamem Zusatz von 20 ml einer 10%igen Lösung von Trimethoxytriazin sowie von 20 ml Glycerin in einer Mischvorrichtung bei 800 Upm zu einem geschäumten Kollagenbrei homogenisiert wurde. Der erhaltene geschäumte Kollagenbrei wurde in Form von 1 cm dicken Schichten in Plastikschaalen gegossen, bei -20°C eingefroren und 3 Tage lang bei der angegebenen Temperatur belassen. Danach wurden die gefrorenen Kollagenschichten bei Zimmertemperatur auftauen gelassen und unmittelbar danach zwischen zwei Druckwalzen mit einer Spaltbreite von etwa 0,3 cm entwässert. Das ausgepresste Kollagenfasergeflecht wurde zwischen zwei Filterpapieren, auf die jeweils ein Metallsieb gelegt wurde, bei Zimmertemperatur getrocknet. Die physikalischen Eigenschaften der erhaltenen filzartigen Membran wurden getestet. Die erhaltenen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 1 aufgeführt:

Tabelle 1

Stärke der filzartigen Kollagenmembran	0,3 cm
Kollagengehalt, bezogen auf Trockensubstanz	84,5 %
Quellung in 0,9 % NaCl nach 24 Std.	4,82-faches des ursprüngl. Gewichtes
Quellung in 0,01 N-HCl nach 24 Std.	8,60-faches des ursprüngl. Gewichtes
Zugfestigkeit eines Streifens von 0,2x1x4,5 cm	4,2 kg
Schrumpfungstemperatur (°C) (bei einer Schrumpfungstemperatur des Ausgangskollagens von 48)	68 ± 2

Die filzartige Membran wurde in PVC-Folien versiegelt und mit Co^{60} -Isotopen in einer Dosierung von 2,5 Mrad sterilisiert.

Beispiel 2

Das in Beispiel 1 beschriebene Verfahren wurde in drei Versuchsansätzen wiederholt, mit der Ausnahme, dass dem Kollagenbrei während des Homogenisierens jeweils 0,5 g der Antibiotika Bacitracin, Neomycin oder Tetracyclin zugesetzt wurden. Es wurden entsprechend vorteilhafte Ergebnisse erhalten.

Beispiel 3

Das in Beispiel 1 beschriebene Verfahren wurde in zwei Versuchsansätzen wiederholt, mit der Ausnahme, dass in den Kollagenbrei während des Homogenisierens ein Luftstrom bzw. Stickstoffstrom eingeleitet wurde. Es wurden entsprechend vorteilhafte Ergebnisse erhalten.

Beispiel 4

Das in Beispiel 1 beschriebene Verfahren wurde wiederholt, mit der Ausnahme, dass der geschäumte Kollagenbrei in Behälter gegossen wurde, auf deren Boden ein Textilgewebe aus Verbandsgaze gelegt worden war. Es wurden entsprechend vorteilhafte Ergebnisse erhalten.

Beispiel 5

100 g des angegebenen Ausgangskollagenbreies mit einem Kollagengehalt von 13,5 %, bezogen auf Trockensubstanz, wurden mit 1 l Wasser versetzt, das 6 ml N-Salzsäure, 10 ml Sorbit sowie 3 ml 25%igen Glutaraldehyd enthielt. Das erhaltene Gemisch wurde in der angegebenen Weise homogenisiert, worauf die Viskosität des geschäumten Kollagenbreies durch Zugabe der erforderlichen Menge konzentrierter Natriumbicarbonatlösung auf 300 cp eingestellt wurde. Der erhaltene Kollagenbrei wurde nach dem in Beispiel 1 beschriebenen Verfahren weiterverarbeitet. Es wurden entsprechend vorteilhafte Ergebnisse erhalten.

Beispiel 6

Dieses Beispiel zeigt den Einfluss der Konzentration des Gerbstoffes auf den Kollagengehalt und das Quellvermögen des gebrauchsfertigen Kollagenfasergeflechtes.

Nach dem in Beispiel 1 beschriebenen Verfahren wurden jeweils 30 g des angegebenen Ausgangskollagenbreies mit einem Kollagengehalt von 8,5 %, bezogen auf Trockensubstanz, mit der in der folgenden Tabelle 2 angegebenen Menge an Glutaraldehyd versetzt und wie angegeben weiterverarbeitet. Der geschäumte Kollagenbrei wurde 6 Tage lang bei -20°C inkubiert. Die erhaltenen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 2 zusammengestellt.

009823/1762

Tabelle 2

Zugesetzter Glutaraldehyd als 25%ige Lösung ml	Kollagengehalt, bezogen auf Trockensubstanz %	Quellung nach 24 St.	
		in 0,9 % NaCl	in 0,01 N-HCl
		x-faches des ursprüngl. Gewichtes	
0,5	81,4	5,04	7,97
1,0	75,5	13,1	12,6
1,5	84,5	17,6	20,3
2,0	83,5	25,2	22,2
2,5	82,0	24,8	28,0

Beispiel 7

Dießes Beispiel zeigt den Einfluss der Konzentration an Weichmacher auf den auf Grund des Kollagengehaltes zu berechnenden Wassergehaltes und das Quellungsvermögen des gebrauchsfertigen Kollagenfasergeflechtes.

Nach dem in Beispiel 1 beschriebenen Verfahren wurden jeweils 30 g des angegebenen Ausgangskollagenbreies mit einem Kollagengehalt von 8,5 %, bezogen auf Trockensubstanz, mit 1 ml 25 %igem Glutaraldehyd und den in der folgenden Tabelle 3 angegebenen Mengen an Glycerin versetzt, worauf in der angegebenen Weise weiter gearbeitet wurde. Der geschäumte Kollagenbrei wurde 6 Tage lang bei -20°C inkubiert. Die erhaltenen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 3 zusammengestellt.

- 15 -

Tabelle 3

Zugesetztes Glycerin ml	Kollagengehalt, bezogen auf Trockensubstanz %	Quellung nach 24 Std.	
		in 0,9 % NaCl	in 0,01 M HCl
		x-faches des ursprüngl. Gewichtes	
0	75,5	13,1	12,6
2	66,7	5,37	6,18
5	28,8	2,80	3,03
10	17,4	1,89	2,78

Beispiel 8

Dieses Beispiel zeigt den Einfluss der Inkubationszeit bei -20°C auf das Quellvermögen des gebrauchsfertigen Kollagenfasergeflechtes in 0,9%iger NaCl-Lösung.

Nach dem in Beispiel 1 beschriebenen Verfahren wurden jeweils 100 g des angegebenen Ausgangskollagenbreies wie angegeben verarbeitet, mit der Ausnahme, dass der geschäumte Kollagenbrei verschieden lange bei -20°C inkubiert wurde. Das Quellvermögen der erhaltenen gebrauchsfertigen Kollagenfasergeflechte wurde getestet. Die erhaltenen Ergebnisse wurden graphisch ausgewertet und sind in Fig. 1 wiedergegeben. Die Inkubation bei -20°C betrug für die mit A bezeichnete Probe 55 Stunden, für die mit B bezeichnete Probe 71 Stunden und für die mit C bezeichnete Probe 121 Stunden.

Die Ergebnisse zeigen, dass mit zunehmender Inkubationszeit das Quellvermögen der fertiggestellten Kollagenfasergeflechte zunimmt, was auf eine höhere Vernetzung zurückzuführen ist.

009823/1762

Beispiel 9

Es wurden 100 g des angegebenen Ausgangskollagenbreies mit einem Kollagengehalt von 13,5 %, bezogen auf das Trockengewicht, mit 500 ml Wasser, 2 ml Sorbit und 3 ml 25%igem Glutaraldehyd versetzt und in einer Mischvorrichtung bei 800 Upm unter Schaumbildung zu einem homogenen Kollagenbrei aufgeschlämmt. Der pH-Wert des geschäumten Kollagenbreies wurde mit gesättigter Natriumbicarbonatlösung auf 5 eingestellt. Der erhaltene Kollagenbrei wurde in Form einer Schicht bei -8°C eingefroren und 8 Tage lang bei dieser Temperatur inkubiert. Danach wurde die gefrorene Kollagenschicht bei Zimmertemperatur auftauen gelassen, worauf aus dem aufgetauten Kollagenfasergeflecht das mechanisch entfernbare Wasser ausgepresst wurde. Das ausgepresste Kollagenfasergeflecht wurde zwischen zwei Bogen Filterpapier und zwei Sieben bei Zimmertemperatur getrocknet. Es wurde etwa 1 m^2 Kollagenfasergeflecht in Form einer 0,5 cm dicken schwammartigen Schicht mit einem Wassergehalt von etwa 10 % erhalten.

Beispiel 10

Es wurden 500 g des angegebenen Ausgangskollagenbreies mit einem Kollagengehalt von 13 %, bezogen auf Trockengewicht, dessen pH-Wert 4,5 betrug, mit 4,5 l Wasser, 7,5 ml Sorbit, 10 ml 25%igem Glutaraldehyd sowie 10 ml 1,5 N-Salzsäure versetzt, worauf das erhaltene Gemisch 3 Stunden lang in einer Mischvorrichtung bei langsamer Umdrehungszahl vermischt wurde. Zu dem erhaltenen Gemisch wurden 30 ml gesättigte Natriumbicarbonatlösung zugegeben, um die Viskosität des Gemisches zu erniedrigen. Das erhaltene Gemisch wurde dann in einer Mischvorrichtung bei hoher Umdrehungszahl von 600 Upm unter Schaumbildung homogenisiert. Der geschäumte Kollagenbrei wurde bei -8°C 14 Tage lang inkubiert. Die Weiterverarbeitung erfolgte nach dem in Beispiel 9 beschrie-

ben n Verfahren. Es wurden entsprechend vorteilhafte Ergebnisse erhalten.

Beispiel 11

Das in Beispiel 9 beschriebene Verfahren wurde wiederholt, mit der Ausnahme, dass dem Kollagenbrei während des Homogenisierens 3 g Bacitracin in Form eines Pulvers zugesetzt wurde. Es wurden entsprechend vorteilhafte Ergebnisse erhalten.

Beispiel 12

Dieses Beispiel zeigt den Einfluss, den die Gerbung mit Hilfe von Gerbmitteln auf die Flüssigkeitsabsorptionsfähigkeit, die Blutsorptionsfähigkeit sowie die Blutgerinnungsaktivität der gebrauchsfertigen Kollagenfasergeflechte ausübt, wenn dieselben nach dem in Beispiel 9 beschriebenen Verfahren in Form von schwammartigen Schichten hergestellt werden.

Das in Beispiel 9 beschriebene Verfahren wurde wiederholt, mit der Ausnahme, dass einer Vergleichsprobe kein Vernetzungs mittel zugesetzt wurde. Die Flüssigkeitsabsorption der gebrauchsfertigen Kollagenfasergeflechte wurde in 0,9%iger NaCl-Lösung und die Blutsorption in mit Heparin versetztem Blut bestimmt. Bei diesem Test wurden die Proben jeweils 60 Sekunden lang in die betreffende Lösung eingetaucht. Die erhaltenen Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle 4

Gerbmittel	Flüssig- keitsab- sorption (x-faches des urspr. Gewichtes)	1) Blutsorp- 2) tion (x-faches des urspr. Gewichtes)	Blutgerinnungs- 3) aktivität
keines (Ver- gleichs- probe)	20	5,3 ± 1,9	+ + + +
Glutar- aldehyd	130	33,0 ± 6,2	+

- 1) 60 Sek. in 0,9%iger NaCl-Lösung
 2) 60 Sek. in mit Heparin versetztem Blut
 3) Bestimmungsmethode beschrieben in
 J. Biomed. Mater. Res. 2, 245 (1968)

Die Ergebnisse zeigen, dass das ungegerbte Kollagenfaser-
 geflecht eine vergleichsweise geringe Absorptionsfähigkeit
 sowie eine hohe Blutgerinnungsaktivität aufweist, wohin-
 gegen das mit Glutaraldehyd gegerbte Kollagenfasergeflecht
 eine hohe Absorptionsfähigkeit für Flüssigkeiten und Blut,
 jedoch eine nur geringe Blutgerinnungsaktivität aufweist.
 Die blutgerinnende Wirkung des gegerbten Kollagenfaserge-
 flechtes ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass bei Be-
 rührung des Blutes mit der grossen schwammartigen Ober-
 fläche des Kollagenfasergeflechtes aufgrund der lokalen
 Viskositätsänderung die Thrombozyten des Blutes platzen,
 sowie darauf, dass das Blut einen Teil des Kollagenschwam-
 mes unter irreversibler Bildung eines Gels auflöst, so dass

sich über der blutenden Wunde ein einheitlicher, eine Tamponwirkung ausübender Kollagenüberzug bildet.

Beispiel 13

Dieses Beispiel zeigt den Einfluss, den das in der eingefrorenen Kollagenschicht vorhandene Wasser auf die Ausbildung der Netzstruktur des Kollagenfasergeflechtes ausübt.

In Vergleichsversuchen wurde ein Kollagenbrei der in Beispiel 9 beschriebenen Zusammensetzung nach dem bekannten Verfahren in Form einer Schicht eingefroren, worauf aus der gefrorenen Kollagenschicht die Hauptmenge des vorhandenen Wassers durch Lyophilisation entfernt wurde. In einem weiteren Versuchsansatz wurde der Kollagenbrei nach dem Verfahren der Erfindung bei -20°C eingefroren und 8 Tage lang bei der angegebenen Temperatur in Anwesenheit des in der Schicht vorhandenen Wassers inkubiert. Die erhaltenen Kollagenfasergeflechte wurden auf ihr Quellvermögen in Wasser getestet. Die erhaltenen Ergebnisse wurden graphisch ausgewertet und sind in Fig. 2 wiedergegeben.

Die Ergebnisse zeigen, dass das nach dem bekannten Verfahren hergestellte Kollagenfasergeflecht zu Beginn der Quellungszeit ein geringeres Quellvermögen als das nach dem Verfahren der Erfindung hergestellte Kollagenfasergeflecht aufweist, sowie, dass nach längerer Quellungszeit das Quellvermögen beider Proben praktisch gleich ist.

Beispiel 14

250 g Ausgangskollagenbrei (13 % Kollagentrockeng wicht) wurden mit 1,7 l Wasser, 5 ml Sorbit (im Handel erhältlich unter der Bezeichnung "Karion F") und 8 ml 25 % Glutaraldehydlösung unter Schaumbildung vermischt, worauf der geschäumte Kollagenbrei in Form einer 1 cm dicken Schicht bei -8°C eingefroren und 3 Tage lang inkubiert wurde. Nach dem Auftauen wurde das Wasser ausgepresst. Das erhaltene Kollagenfasergeflecht war ein etwa 1 cm dicker Kollagenschwamm, der die folgenden Eigenschaften aufwies:

Wassergehalt	77 %
Kollagengehalt, bezogen auf Trockengewicht	23 %

Wasseraufnahme, bezogen auf Feucht- gewicht des Kollagens	400 g H_2O /100 g Kollagen
---	--

Wasseraufnahme, bezogen auf Trockengewicht des Kollagens	2000 g H_2O /100 g Kollagen
---	---

Das ausgepresste Kollagenfasergeflecht wurde unter einem Druck von 250 Atm. noch weiter ausgepresst. Die erhaltene membranartige Schicht wurde sterilisiert und steril aufbewahrt. Wurde diese membranartige Schicht mit Wasser angefeuchtet, so absorbierte sie sofort und schnell Wasser unter Bildung der ursprünglichen 1 cm hohen Schicht.

P a t e n t a n s p r ü c h e
=====

1. Verfahren zur Herstellung von Kollagenfasergeflechten in Form von filzartigen Membranen oder schwammartigen Schichten, bei dem alkalisch und/oder sauer aufgeschlossene Haut und/oder Sehnen oder andere kollagenreiche Bindegewebe von Tieren mechanisch zerkleinert, die erhaltene zerkleinerte Kollagenmasse gegebenenfalls unter gleichzeitigem Zusatz von Vernetzungsmitteln, Weichmachern und/oder therapeutisch oder diagnostisch wirksamen Verbindungen mit Wasser zu einem homogenen Kollagenbrei aufgeschlämmt und der erhaltene Kollagenbrei in Form einer Schicht eingefroren und von der Hauptmenge Wasser befreit wird, dadurch gekennzeichnet, dass man die zerkleinerte Kollagenmasse unter Schaumbildung in Gegenwart von Luft und/oder eines inerten Gases zu einem homogenen Kollagenbrei mit einem Kollagengehalt von etwa 0,3 bis 3 %, vorzugsweise von 0,5 bis 2 %, bezogen auf das Trockengewicht, aufschlämmt, den pH-Wert des Kollagenbreies auf 3 bis 5,5, vorzugsweise auf 4 bis 5, einstellt, den geschäumten Kollagenbrei in Form einer Schicht bei Temperaturen von -2 bis -40°C, vorzugsweise von -5 bis -30°C einfriert und 1 bis 30 Tage lang, vorzugsweise 2 bis 8 Tage lang, unter normalem Druck bei den angegebenen Temperaturen belässt, danach die gefrorene Kollagenschicht bei Temperaturen von etwa 10 bis 30°C, vorzugsweise bei Zimmertemperatur, auftaut, aus dem erhaltenen aufgetauten Kollagenfasergeflecht die Hauptmenge an Wasser durch Auspressen mechanisch entfernt und gegebenenfalls das ausgepresste Kollagenfasergeflecht bei Zimmertemperatur trocknet.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man die zerkleinerte Kollagenmasse in einer Mischvorrichtung bei einer Umdrehungsgeschwindigkeit des Mischers von etwa 500 bis 800 Upm, in Gegenwart von Luft, gegebenenfalls unter Einleiten eines inerten Gases zu einem homogenen Kollagenbrei aufschlämmt.
3. Verfahren nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass man als inertes Gas Stickstoff oder Kohlendioxyd verwendet.
4. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass man den pH-Wert oder den Kollagengehalt des geschäumten Kollagenbreies auf einen solchen Wert einstellt, dass die Viskosität des Kollagenbreies etwa 300 bis 500 cp beträgt.
5. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass man dem Kollagenbrei als Vernetzungsmittel Glutardialdehyd oder Melamin-Formaldehydharze in Konzentrationen von etwa 0,1 bis 3 %, vorzugsweise von 0,2 bis 2 %, bezogen auf das Gesamtvolumen des Kollagenbreies, einverleibt.
6. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass man dem Kollagenbrei als Weichmacher Glycerin oder Sorbit in Konzentrationen von etwa 0,1 bis 3, vorzugsweise von 0,2 bis 1 %, bezogen auf das Gesamtvolumen des Kollagenbreies, einverleibt.
7. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass man dem Kollagenbrei als therapeutisch wirksam Verbindung ein die Blutgerinnung hemmende oder fördernde Verbindung, ein schmerzstillendes Mittel.

oder ein Antibiotikum in Konzentrationen von etwa 10 bis 100 %, vorzugsweise von 30 bis 60 %, bezogen auf das Trockengewicht des in dem Kollagenbrei vorhandenen Kollagens, einverleibt.

8. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass man dem Kollagenbrei als diagnostisch wirksame Verbindung eine Isotope enthaltende Verbindung einverleibt.
9. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass man den Kollagenbrei in Form einer etwa 0,2 bis 5 cm, vorzugsweise 0,5 bis 3 cm starken Schicht einfriert.
10. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass man den Kollagenbrei auf einem Textilgewebe aus natürlich vorkommenden oder künstlich hergestellten Fasern oder Fäden in Form einer Schicht ausbreitet und anschliessend einfriert.
11. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass man aus dem aufgetauten Kollagenfasergeflecht das Wasser zwischen zwei im Abstand von etwa 0,2 bis 0,5 cm, vorzugsweise von 0,3 cm, rotierbar angeordneten Druckwalzen auspresst.
12. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass man das ausgepresste Kollagenfasergeflecht gegebenenfalls nach Aufbringen von saugfähigen Folien auf eine oder beide Oberflächen zwischen zwei Gittern durch Aufblasen eines Luftstromes trocknet.

Fig. 2

QUELLVERMÖGEN von Kollagenfasergäflechten

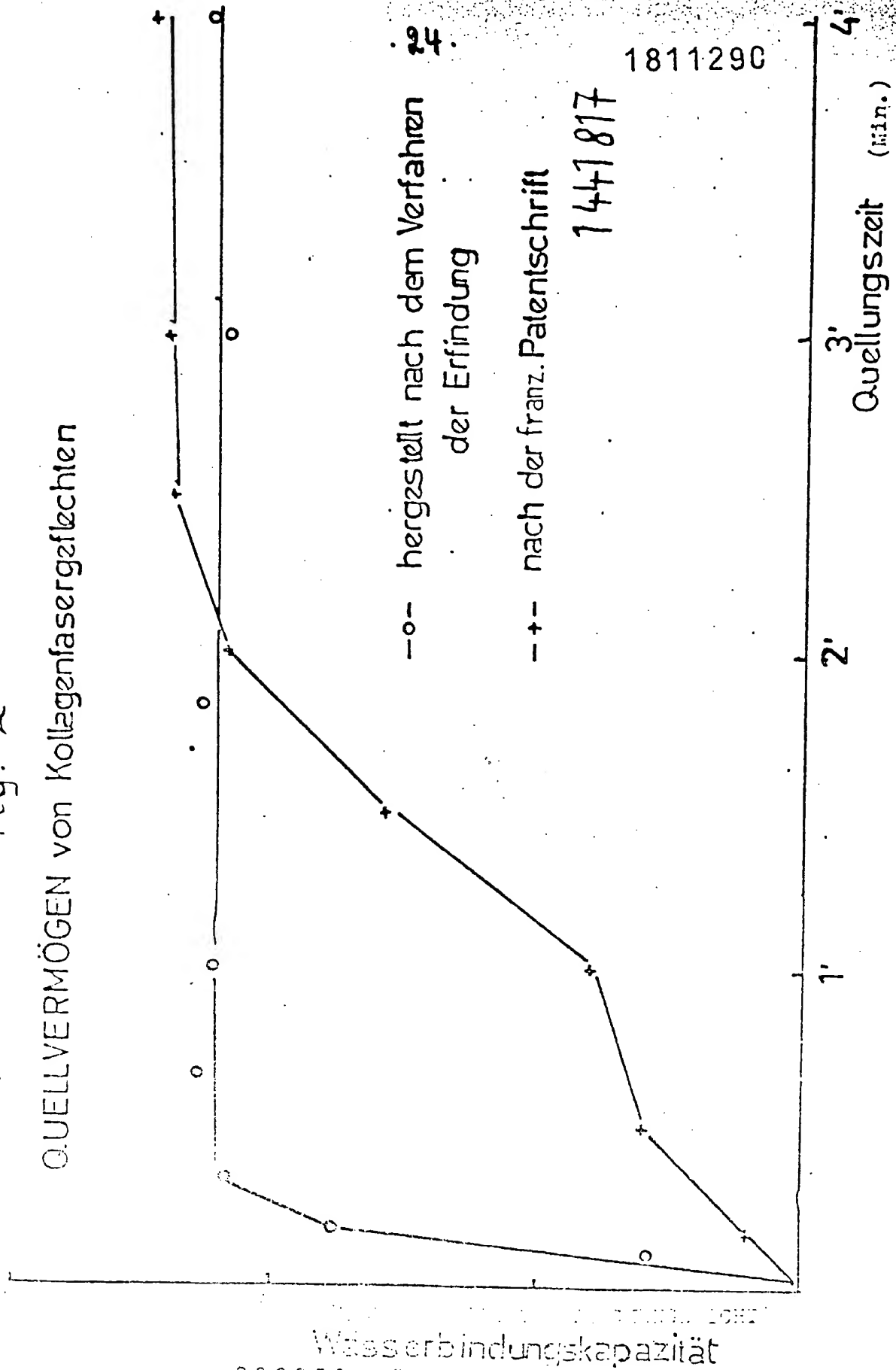


FIG. 1

EINFLUSS DER INKUBATIONSZEIT BEI -20°C AUF DAS QUELLVERMÖGEN
DES GEBRAUCHSFÄHIGEN KOLLAGENFASERGEFLECHTES IN 0,9 % NaCl-LÖSUNG

